

厚生労働科学研究研究費補助金

(子ども家庭総合研究)

先天異常モニタリング・サーベイランスに関する研究

平成18年度 研究報告書

主任研究者 平原史樹

2007年3月

平成18年度厚生労働科学研究研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）

研究報告書

先天異常モニタリング・サーベイランスに関する研究

主任研究者 平原史樹

横浜市立大学国際先天異常モニタリングセンター長

日本産婦人科医会常務理事（先天異常担当）

横浜市立大学大学院医学研究科生殖生育病態医学

（産婦人科学）教授

研究協力者

住吉 好雄	横浜市立大学客員教授、神奈川県労働福祉協会理事
黒澤 健司	神奈川県立こども医療センター遺伝科医長、
山中美智子	神奈川県立こども医療センター周産期医療部産婦人科部長
中川 秀昭	金沢医科大学公衆衛生学教授
夏目 長門	愛知学院大学歯学部附属病院口唇口蓋裂センター教授
中村 好一	自治医科大学地域医療学センター公衆衛生学部門教授
平岡 真実	女子栄養大学医化学研究室助手

要約：われわれを取り巻く環境因子にはさまざまな形で生命に影響を及ぼしている。これらの中に存在する薬剤、環境因子をはじめとした様々な外的先天異常発生要因がすでに先天異常モニタリングシステム、更には奇形発生毒性学の進歩によって指摘されている。なかでも、これらの因子を常時継続的に定点監視し、何らかの変動を早期に感知して、その変動を分析するシステム（先天異常モニタリング・サーベイランスシステム）は母児の健康維持、健康政策上きわめて重要である。本研究はこの先天異常発生要因の存在を疫学的観点から全国レベル（日本産婦人科医会）、地域（東海3県、神奈川県、石川県）において解析検討し、また2000年12月に厚生省より通知された葉酸による神経管閉鎖障害の発生リスク低減への情報提供に基づく一般女性への浸透状

況、神経管閉鎖障害発生動向等の検討をあわせおこなうと同時にその栄養学的視点から若年女性の葉酸摂取状況、食品中の葉酸含有レベルの検討を行った。

いずれのモニタリングにおいても先天異常児出産頻度は2%弱であり、心室中隔欠損が最も多く、ついで口唇・口蓋裂、ダウン症、耳介低位、水頭症、十二指腸・小腸閉鎖、が高頻度発生異常であった。昨年調査と比し、若干の順位の入替えはあるものの上位の高頻度異常はほぼ同様の傾向であった。神経管閉鎖障害の一つである髄膜瘤は1998年以降、引き続いて微増傾向を示していた。また、妊娠女性の妊娠時の食生活、栄養摂取状況の調査を葉酸への認識調査とあわせ行ったが、その認識度は改善されておらず、さらなる情報伝達方法の検討が必要と考えられた。

見出し語；先天異常モニタリング、全国調査、地域調査、先天異常サーベイランス、
葉酸

緒言・研究目的：

先天異常の発生要因にはさまざまな因子がかかわるが、本来、ヒトには先天異常が約5%の頻度で発生するといわれており、その原因には不明のことが多い。しかしながら、薬剤、環境因子をはじめとした様々な外的発生要因も多く存在し、現代社会においては、これらの因子を常時継続的に定点監視し、何らかの変動を早期に感知して、その変動を分析するシステム（先天異常モニタリング・サーベイランスシステム）は母児の健康維持、健康政策上きわめて重要である。本研究はこの先天異常発生要因の存在を疫学的観点から解析検討し、先天異常発生動向を解析し、催奇形因子の有無を明らかにすることを目的とし、あわせ本邦に多く見られる先天異常の疫学的検討、を全国レベル（日本産婦人科医会）、地域（東海3県、神奈川県、石川県）において行い、また2000年12月に厚

生省より通知された葉酸による神経管閉鎖障害の発生リスク低減への情報提供に基づく一般女性への浸透状況、神経管閉鎖障害発生動向等の検討をあわせおこなうと同時にその生化学的視点から葉酸摂取レベル、また摂取している食品の検討をあわせ行った。

研究方法：

（1）全国規模モニタリング（平原史樹、住吉好雄、山中美智子）
日本産婦人科医会先天異常モニタリングによるデータ収集
⇒横浜市立大学医学部国際先天異常モニタリングセンターでの解析
データの収集 ⇒ 個票の医学的検証
⇒ 解析（科学的検証）
⇒ （有意の場合）警告の発信、すなわち催奇形性有害因子の特定除去を提議
（催奇形因子の発見・同定と同時

にその警告の発信ができる態勢の整備・準備は常時臨戦態勢

(2) 地域全人口対象モニタリング(東海3県、神奈川、石川)(夏目長門、黒澤健司、中川秀昭)

データの収集 ⇒ 個票の医学的検証 ⇒ 解析(科学的検証)

⇒ (有意の場合)警告の発信、すなわち催奇形性有害因子の特定除去を提議

(催奇形因子の発見・同定と同時にその警告の発信ができる態勢の整備・準備は常時臨戦態勢)

(3) プロジェクト解析(平岡真実、平原史樹、中村好一)

① 葉酸の摂取状況と葉酸摂取推進情報提供の進捗状況の解析

なぜ若年女性に浸透しないか、その浸透状況の分析とその対応を検討した

② 本邦女性における葉酸摂取状況の検討

③ 生殖補助医療と先天異常との関連性の検討

研究結果:

1. 先天異常の発生動向—全国調査および地域調査解析から:

2005年1月から12月までの間にモニタリングされた出産児数72,229例における調査からは、先天異常児出産頻度は1409児1.95%であり、心室中隔欠損が最も多く、ついで口唇・口蓋裂、ダウン症、十二指腸小腸閉鎖、耳介低位、動脈管開存、水頭症、口蓋裂、が高頻度発生異常であった。昨年との調査と比し、若干の順位の入替はあるものの上位の高頻度異常はほぼ同様の傾向であった。また、

神経管閉鎖障害の一つである髄膜瘤、をはじめ、腹壁破裂、尿道下裂は1998年以降、引き続いて微増傾向を示していた。

さらに心臓の先天異常をみると、心室中隔欠損、心房中隔欠損、動脈管開存、大血管転位、ファロー四徴、左心低形成、大動脈縮窄が上位頻度30以上に入り、心臓の先天異常が目立った。葉酸摂取との関連が懸念される神経管閉鎖障害は、無脳症は1万出生あたり1.4人で漸減傾向が続いているが、髄膜瘤は1万出生あたり4.7人と昨年と引き続き、依然高い傾向を示した。1993年の一万出生あたり3.9と比べるとおよそ1.3倍の頻度が増えている。

また各地域モニタリングにおいてもほぼ同様の頻度、種類で先天異常発生を見た。

2. 葉酸摂取状況と先天異常の検討:

一方、葉酸の認識状況については「葉酸推奨勧告を知っている」と回答した妊娠女性は2001年度13.3%、2002年度10.8%、2003年度10.3%と2000年の勧告通達直後、いったん増加したがその後は低認識率に留まっている。また、葉酸サプリメントを妊娠初期に服用していた妊娠女性は2001年度2.2%、2002年度10.8%、2003年度2.8%とほとんど摂取勧奨が実施されていない実態が依然続いており、葉酸摂取の推進に伴う神経管閉鎖障害の減少への期待は実現していないことが明らかとなった。

3. 生殖補助医療と先天異常:

さらに、日本産婦人科医会調査から、

2003年以降の先天異常症例調査の中で不妊治療が行なわれた事が判明した237例の先天異常症例について検討を行なった。先天異常の発生状況は男児51.6%、女児48.4%であり、高頻度であった先天異常の種類をみると心臓血管異常18.2%、四肢形成形態異常12.9%、多発奇形12.1%、消化管異常9.8%等の順であり、染色体異常も8.2%でみられた。

該当先天異常132例中最も多かったのは心臓血管異常の24例（18.2%）であり、以下四肢形成形態異常17例（12.9%）多発奇形16例（12.1%）消化管異常13例（9.8%）等の順であった。またダウン症9例、18トリソミー2例の染色体異常も含まれていた。一方、神奈川県におけるモニタリング調査の解析からは昨年引き続き、消化管閉鎖、特に小腸閉鎖・狭窄の発生頻度が高い傾向、また、18トリソミーの頻度も目立っていた。

考察：

先天異常児の発生状況は2005年度の全国及び各地域の先天異常モニタリング集計分析からは、特定の異常の異常推移、特定の地域での多発等は認められず、全国規模で特段懸念される事態ではないことが判明した。一方、例年の結果に同様の傾向を示したことから、これまでに提議された問題点でもある、

①増加奇形での検討解析：神経管閉鎖不全（無脳児、二分脊椎）、尿道下裂、ダウン症など、②解析・検討課題となった特定の奇形：フォコメリアの検証（サリドマイドの再使用に対応）、に対しては

今後も引き続き慎重な調査追跡を要することが重要と思われた。

一方、妊婦への葉酸摂取通達（2000年への提議策定、葉酸摂取の浸透状況の検討、本邦女性における葉酸代謝のデータ食品中の葉酸含量解析などは基礎データが本邦では十分検討されていないことからして重要なデータとなった。

昨今の生殖補助医療の発展は目覚しく、新生児のほぼ1%以上は生殖補助医療によって誕生している。しかしながら、生殖補助医療と先天異常発生リスクとの関連性に関してはまだ解析はなされていないのが現状である。一方では、ゲノムインプリントの異常や、体外受精例での神経管異常、消化管異常の増加傾向は海外でも報告されており、本研究においても消化管閉鎖症例の発生に関してはやはり体外受精の影響が推測された。しかしながら、不妊診療、生殖補助医療（ART）における先天異常発生の可能性についてはさまざまな報告があり、必ずしも定見はなく、今回の検討結果を報告するとともに、今後も注視し、今後、日本産婦人科医会での全国調査解析を含め、これらについて十分な監視体制が必要であると考えられた。

日本産婦人科医会調査機構（横浜市大国際クリアリングハウスモニタリングセンター）は国際先天異常監視研究機構（WHO）での情報収集、学術情報交換解析からの先天異常監視体制との連携、共同体制をとっており、諸外国では、英国、米国、デンマーク、はじめ多くの国は政府部内に政府職員がこの業務にあっているが、本邦では、日本産婦人科医

会がいち早くはじめた実績があったこともあり、また、先天異常という微妙な問題であったことから、国、自治体が入り込みにくいまま日本産婦人科医会等にデータ収集を付託してきた経緯となった。

本研究にかかわる、共同施設においては、相互の密接な連携のもとに、本邦の先天異常モニタリング体制をかりうじて維持しているが、現在、各関係（行政、立法、報道等）機関、関係者からの先天異常発生动向に対する問い合わせに応じる唯一の窓口にもなっており、国の健康政策に寄与しうる重要な情報の取り扱いを実施している唯一の全国共同研究として本研究はきわめて重要と考えられた。

業績

論文発表 2006年

Numazaki R, Miyagi E, Onose R, Nakazawa T, Sugiura K, Asukai K, Nakayama H, Miyamatsu A, Okamoto N, Hirahara F : Historical control study of paclitaxel-carboplatin (TJ) versus conventional platinum-based chemotherapy (CAP) for epithelial ovarian cancer . *International Journal of Clinical Oncology*, 11(3): 221-228, 2006.

Sukegawa A, Miyagi E, Suzuki R, Ogasawara T, Sato M, Yoshida H, Sugiura K, Nakazawa T, Onose R, Onishi H, Hirahara F : Post-traumatic stress disorder in patients with gynecologic cancers. *THE JOURNAL OF Obstetrics and Gynecology Research*, 32(3) : 349-353, 2006.

Ogawa M, Yanoma S, Nagashima Y, Okamoto N, Ishikawa H, Haruki A, Miyagi E, Takahashi T, Hirahara F, Miyagi Y : Paradoxical Discrepancy Between the Selum Level and the Placental Intensity of PP5/TFPI-2 in Preeclampsia and/or Intrauterine Growth Restriction : Possible Interaction and Correlation with Glypican-3 Hold the Key. *Placenta*, Mar 29, 2006.

Kanda Y, Ikeda M, Ishikawa M, Sakakibara H, Hirahara F : Laparoscopy for the treatment of unexplained infertility . *Reproductive Medicine and Biology*, 5 : 59-64, 2006.

Hamanoue H, Umezu N, Okuda M, Harada N, Ohata T, Saji H, Mizuguchi T, Ishikawa H, Takahashi T, Miura K, Hirahara F, Matsumoto N : Complete hydatidiform mole and normal live birth following intracytoplasmic sperm injection. *Journal of Human Genetics*, 51(5) : 477-479, 2006.

Yasuda M, Kajiwara H, Osamura R.Y, Hirasawa T, Muramatsu T, Murakami M, Takagi M, Tadokoro M, Kobayashi Y, Inayama Y, Miyagi E, Nakatani Y : Ovarian carcinomas with neuroendocrine differentiation: Review of five cases referring to immunohistochemical characterization. *Japan Society of Obstetrics and Gynecology*, 32(4) : 387-395, 2006.

Yamamoto T, Kurosawa K, Ueda H, Kawataki M, Yamanaka M, Asou T : A large interstitial deletion of 17p11.2-13.1 including Smith-Magenis region in a

- patient with congenital multiple anomalies. *Am J Med Genet*, 140A : 88-91, 2006.
- 平原史樹：風疹罹患の可能性をもつ妊娠女性への適切なる対応に関する研究・産褥期風疹ワクチン接種に関する検討. *病原微生物検出情報*, 27 (4) : 96-97, 2006.
- 奥田美加, 平原史樹：風疹罹患の可能性をもつ妊娠女性への適切なる対応に関する研究・産褥期風疹ワクチン接種に関する検討. *病原微生物検出情報* 314号, 27 (4) 96-97, 2006.
- Hiraoka M, Kato K, Saito Y, Yasuda K, Kagawa Y (2004) Gene-nutrient and gene-gene interactions of controlled folate intake by Japanese women. *Biochem Biophys Res Commun*. 316: 1210-1216.
- Hiraoka M (2004) Folate intake, serum folate, serum total homocysteine levels and methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in young Japanese women. *J Nutr Sci Vitaminol*. 50: 238-245.
- 平原史樹：胎児異常と遺伝カウンセリングの実際. *産婦人科の実際*, 73 (4) : 434-439, 2006.
- 平原史樹：生殖医療における倫理的問題と対応－医師の立場から－. *日本不妊看護学会誌*, 3 (1) : 29-30, 2006.
- 平原史樹, 山中美智子, 住吉好雄, 朝倉啓文, 坂元正一：わが国における先天異常の現状. *月刊薬事*, 48 (2) 85-90, 2006.
- 平原史樹：“お産ができるところが急激に減っていく－産科医不足の現状とその解決へ向けて－”. *日本産科婦人科学会神奈川地方部会会誌*, 43 (1) : 29-36.
- 2006年
学術発表
- 平原史樹：『先天異常と私たちの生活環境－その生活習慣では赤ちゃんは護れない－』. 平成18年度日本産婦人科医学会静岡県支部日本産科婦人科学会静岡県地方部会合同定例総会, 静岡, 2006, 4.
- 平原史樹, 住吉好雄, 山中美智子, 朝倉啓文, 鈴木俊治, 塚原優己, 宮城悦子, 木下勝之, 坂元正一：不妊治療・ART と先天異常－日本産婦人科医学会先天異常モニタリング調査より. 第46回日本先天異常学会学術集会, 山形, 2006, 6.
- 平原史樹：「私たちの生活環境と先天異常－環境因子の先天異常への影響と妊婦が気をつけるべきこと－」. 平成18年度日本産科婦人科学会富山地方部会. 第3回例会・特別講演, 富山, 2006, 10.

愛知・岐阜・三重県における2005年の先天異常発生頻度に関する研究
(先天異常モニタリング・サーベイランスに関する研究)

主任研究者 平原史樹 横浜市立大学大学院医学研究科生殖生育病態医学
(産婦人科学) 教授

研究協力者 夏目長門 愛知学院大学歯学部附属病院口唇口蓋裂センター
愛知学院大学歯学部口腔外科学第二講座

共同研究者 吉田和加 愛知学院大学大学院ハイテク・リサーチ・センター
永田映里佳 長瀬好和 藤原久美子 新美照幸 古川博雄
南 克浩 外山佳孝 鈴木 聡 鈴木俊夫 上谷美幸
朝野 誠 早川統子 越路千佳子 多田勝子 伊藤美知恵
高見 観 下岡美智子 井上知佐子 富永智子
杉山成司 友田 豊
(愛知学院大学歯学部附属病院口唇口蓋裂センター)

研究要旨：2005年1月1日より12月31日までの1年間における愛知・岐阜・三重県の外表先天異常の発生率について調査を行った。先天異常児の発生頻度は、出産児1万人に対し55.68人であった。そのうち最も頻度が高かったのは口唇裂(口唇口蓋裂を含む)11.88人、以下ダウン症候群8.85人、口蓋裂3.96人、鎖肛3.49人の順であった。

なかでも発生率の高い疾患である口唇・口蓋裂を中心に合併症発現率、体重、出生月などについて集計した。口唇・口蓋裂は出生児46,793人中に73人(0.156%)認められ、口唇・口蓋裂出生頻度は641.0人に1人であった。

研究目的：我々は東海地方における先天異常のモニタリングを行う目的で、継続して調査を実施している。本モニタリングは1981年より本学の所在する愛知県において愛知県産婦人科医会、並びに助産師会の協力を得て口唇・口蓋裂の発生率調査を開始し、1986年から岐阜県、1988年から三重県においても調査を開始し、調査項目を増やしながら本年まで継続している。

当センターを受診したPrimary caseのデータを基に疫学解析を行う場合、専門医受診前の死亡症例等、本症を合併する重篤な症例が含まれ

ない場合がある。このため本研究において東海地区の出産施設のものをモニタリングし、本症の発生率に著しい変動が生じた場合は、直ちにわれわれの施設に来院した患者集団において、環境要因等を含めた詳細な調査を行う体制をとっている。

また1998年からは、日本母性保護産婦人科医会(現、日本産婦人科医会)の外表面形等統計調査の分類に準じた先天異常全般に関する調査項目を追加した。当センターが継続してきた口唇・口蓋裂出生率に関する調査では、長らく出

生児のみをその対象としてきたが、以後、妊娠22週以降の全ての妊娠を対象とした出産児についてもデータを収集している。

研究方法：愛知・岐阜・三重の3県下に所在するすべての出産施設に調査依頼を行い、379施設のうち調査用紙を返送頂いた196施設を調査対象施設とした。

各種先天異常に対する解析においては、国際クリアリングハウスや日本産婦人科医会による調査と同様、妊娠22週以降の死産児を含めた出産児を対象とし、口唇・口蓋裂児に関する詳細な調査においては、妊娠22週以降の出産児についてのデータを収集するも、2005年の結果を従来のものと比較検討する必要性から、出生児をその対象として解析を行うこととした。

なお、出産児（出生児ならびに死産児）を対象とした先天異常全般に関しては発生率の表現を、出生児のみを対象とした口唇・口蓋裂に関しては出生率の表現を用いた。

研究結果：先天異常児の愛知・岐阜・三重県における発生頻度は出産児1万人に対し55.68人であった。そのうち最も頻度が高かったのは口唇裂（口唇口蓋裂を含む）11.88人、以下ダウン症候群8.85人、口蓋裂3.96人、鎖肛3.49人の順であった（表1）。

各県の出生児における口唇・口蓋裂患者について報告する。調査対象者は、総出生児数の明らかであった施設の出生児46,793人であり、これは同時期の愛知・岐阜・三重県の全出生数100,161人の46.7%である（表2）。口唇・口蓋裂患者の出生頻度は、愛知県0.150%（1：664.5）、岐阜県0.162%（1：619.2）、三重県0.166%（1：602.7）であった。3県の合計では0.156%（1：641.0）であった（表3、図1）。これらの数値をもとに調査対象年の口唇・口蓋裂患者の総出生数を推定すると95%信頼限界内において、愛知県は70.1～131.9人、

岐阜県は14.6～42.6人、三重県は13.0～37.9人が出生していたと推定される。また、同様に人口動態統計をもとに我が国全体で出生していたと推定される本症患者は1277.7～2037.6人である（表4）。

裂型分類についてみると愛知県では口唇裂7人、口唇口蓋裂27人、口蓋裂7人、岐阜県では口唇裂3人、口唇口蓋裂9人、口蓋裂4人、三重県では口唇裂5人、口唇口蓋裂4人、口蓋裂7人であった（表5）。次に1981年より本調査で登録された口唇・口蓋裂患者のうち裂型、性別の明らかな1957人について裂型別の比率をみたところ、男性では、口唇裂34.6%（372人）、口唇口蓋裂50.7%（545人）、口蓋裂14.8%（159人）、女性では、口唇裂27.8%（245人）、口唇口蓋裂44.4%（391人）、口蓋裂27.8%（245人）で、全体では口唇裂31.5%（617人）、口唇口蓋裂47.8%（936人）、口蓋裂20.6%（404人）であった（表6）。

3県のデータを合わせて、合併症発現比率が最も多いのは、口蓋裂の男性であり（表7）、出生時の平均体重は、口唇裂2975.4g、口唇口蓋裂2920.0g、口蓋裂2999.5gであった（表8）。

また、出生月の明らかな1,811人についてその出生月を集計したところ、1月7.6%、2月7.2%、3月8.4%、4月8.4%、5月7.6%、6月7.8%、7月8.6%、8月9.1%、9月8.1%、10月9.8%、11月7.8%、12月9.6%であり、人口動態統計による過去5年間の全国平均と比較すると、危険率5%で口唇・口蓋裂児の出生率は10月が有意に高い値を示した（表9、図2）。

また在胎期間、分娩方法についても集計した（表10、11）。

考察：われわれは1981年より本学の所在する愛知県において愛知県産婦人科医会、並びに助産師会の協力を得て口唇・口蓋裂の発生調査を開

始し、1986年から岐阜県、1988年から三重県においても調査を開始し、調査項目を増やしなが
ら本年まで継続している。本データベースに登録された1982～2005年の総調査対象数は1,322,329人で本症患者は1,929人であったので、本症出生率は0.146%であった。

2005年の本症出生率を前年までの平均値と比較し、大きな変化があったかどうか、 χ 二乗検定を用いた有意差検定を行った。調査開始直後については、当方ならびに対象施設双方の理解が不十分であったと考えられるため、1983年からのデータを使用した。危険率5%以下を有意差有りとしたところ、有意差は認められなかった。しかしながら、今後の動向を注意深く観察したいと考えている。

我々は、口唇口蓋裂に関する臨床での予防の取り組み (<http://www.aichi-gakuin.ac.jp/~yobou>) や、遺伝カウンセリング (http://www.aichi-gakuin.ac.jp/~cag_sp/) などを実施しており、先天異常の正確な数値の把握の重要性を痛感している。また、病診連携の進展により、少しでも口唇・口蓋裂をはじめとする先天異常児や哺

乳障害等、出生直後の問題点の早期解消に努めたい。最近、第2子の出産に悩むご両親向けのDVD「口唇口蓋裂の遺伝カウンセリングと予防～まだ見ぬ我が子のために～」を作成し、関連施設で利用していただいている。

20年間以上にわたり調査を行うことは社会環境の変化など大変困難なものであった。特に最近では少子化などにより出産施設の減少もあり、調査協力、回収率の確保は年々困難となっている。本年の調査率は、愛知県で40.6%、岐阜県で56.0%と例年に比べ低く、三重県では62.8%と高かったが、3県の合計では46.7%と低かった。しかしながら、この種のモニタリングは同様のシステムで長く継続することが重要と考える。

最後に本調査に関して御協力を賜りました愛知県、岐阜県、三重県それぞれの産婦人科医会、助産師会の皆様ならびに、澤田昌美、幸村綾子、鈴木佐智子、朝岡及子、山田恭子、小田井奈代、今泉朋子、米澤実佐子秘書に深謝致します。

厚生科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

先天異常モニタリング・サーベイランスに関する研究

主任研究者 平原史樹 横浜市立大学大学院医学研究科生殖生育病態医学
(産婦人科学) 教授

研究課題：葉酸栄養状態におよぼす日本食中のモノグルタミン酸型とポリグルタミン酸型葉酸の存在比の検討

研究協力者：平岡真実（女子栄養大学臨床生化学研究室 助手）

共同研究者：安田和人、小島早貴、加藤久美子、香川靖雄（女子栄養大学）

要約：食品中の葉酸には、グルタミン酸が1つ結合したモノグルタミン酸型と複数結合したポリグルタミン酸型があり、bioavailability が異なっている。我が国の食習慣において葉酸の bioavailability は50%といわれているが、実際に摂取している葉酸のモノグルタミン酸型とポリグルタミン酸型の比率に関する報告はほとんどない。葉酸を十分摂取することは、血中ホモシステイン濃度を正常に保ち、動脈硬化や認知症の予防につながる。そこで、効果的な葉酸摂取を提案するためのステップとして、食事中葉酸のモノグルタミン酸型とポリグルタミン酸型の比率の検討を行った。

葉酸供給源として上位の食品を中心に17食品を選び、茶飲料は玉露、煎茶のほか、ペットボトル茶飲料7種類、さらに通常食される献立から5食選び試料とした。前処理はtrienzyme 法にて行い総葉酸量を *L.casei* を用いた微生物法にて測定した。モノグルタミン酸型とポリグルタミン酸型の分別はコンジュガゼ処理の有無によりおこなった。

茶飲料中のモノグルタミン酸型葉酸の割合はペットボトル茶では14±3.8%、煎茶は19.6%、玉露は27.4%であった。平均葉酸値は茶飲料7種類で4.4±1.2μg/100ml と成分表値よりも低かった。今回測定した食品ではたんぱく質の多い食品中のモノグルタミン酸型の割合が比較的高かった。また5献立中のモノグルタミン酸型は平均14.4%となった。今後分析する食品数を増やし、HPLC 法による葉酸誘導体の分離定量を検討する必要がある。

研究目的：

天然型の葉酸は、プテリジン骨格に4個の水素が結合した5, 6, 7, 8-テトラヒドロ葉酸 (H₄PteGlu) にメチル、メチレン、ホルミル基等の一炭素単位が結合し、グルタミ

ン酸が2～11個結合したポリ-γ-グルタミン酸型葉酸の形で存在する¹⁾。一方、サプリメントや薬剤に使用されている葉酸はメチル基や水素などの結合はなく、わずかグルタミン酸が1個結合したプテロイルモ

ノグルタミン酸 (PteGlu) の構造をもつ。日常の食事から摂取される総葉酸の約75%は、ポリグルタミン酸型葉酸といわれているが²⁾、これは体内に取り込まれると、小腸の刷子縁膜に存在するコンジュガーゼでモノグルタミン酸型葉酸まで切断され初めて吸収される。したがって、モノグルタミン酸型とポリグルタミン酸型葉酸では bioavailability が異なる。穀類に強制的に葉酸を強化 (140 μ g/100g穀類) している米国では、食品中葉酸量をDFEs(dietary folate equivalents)として表しており、天然の食品中の葉酸に対して強化葉酸のプテロイルモノグルタミン酸には1.7を乗じている³⁾。我が国の食習慣における葉酸の bioavailability は50%といわれているが、食事時のモノグルタミン酸型葉酸とポリグルタミン酸型葉酸の比率に関する報告はない。葉酸を十分摂取することは、血中ホモシステイン濃度を正常に保ち、動脈硬化や認知症の予防につながるが、葉酸代謝酵素であるメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 MTHFR の遺伝子多型C677TのTT型においては、CC、CT型に比べてより多くの葉酸摂取が必要であることを我々は報告した⁴⁾。そこで、効果的な葉酸摂取を提案するためのステップとして、食事中葉酸のモノグルタミン酸型とポリグルタミン酸型の比率の検討を行った。

研究方法：

食品試料は日本人の主な葉酸供給源となる食品の上位のもの⁵⁾と、食生活データ総合年報2006年版⁶⁾の報告に基づいた日本人の主な消費食品を中心に、17食品を選択した。いずれも大学近隣のスーパーマー

ケットで市販されているもので、1食品につき産地、メーカーの異なる3種類を購入した。さらに茶飲料は玉露、煎茶のほか、ペットボトル茶飲料7種類 (おーいお茶、生茶、まろ茶、カテキン式、ヘルシア緑茶、おーいお茶濃い味、伊右衛門) を測定した。また、女子栄養大学栄養クリニックのヘルシーダイエットコースで提供された献立から5種類選択し、日常的な食事の例として測定に供した。

葉酸の定量は、葉酸要求株である乳酸菌 (*Lactobacillus casei* ATCC 7469) を用いた微生物学的定量法に従い、比濁法で測定した。*L.casei* は、モノグルタミン酸型葉酸からトリグルタミン酸型葉酸までに生育活性を持つため⁷⁾、総葉酸含量の測定には適しているが、正確なモノグルタミン酸型葉酸の割合を測定することは難しい。しかし一部の食品ではジ、やトリグルタミン酸型葉酸はないとする報告もある⁸⁾。そこで今回は HPLC 法に先立つ検討と位置づけ微生物学的定量法を用いた。試料の前処理は trienzyme 法⁹⁾、すなわち、プロテアーゼ、アミラーゼおよびコンジュガーゼ処理を行い、総葉酸測定用とした。酵素処理を行わない試料を便宜上遊離葉酸 (モノグルタミン酸型葉酸からトリグルタミン酸型葉酸) とした。

研究結果：

茶飲料中の遊離葉酸割合は表1に示すようにペットボトル茶では14 \pm 3.8%、煎茶は19.6%、玉露は27.4%であった。平均葉酸値は茶飲料7種類で4.4 \pm 1.2 μ g/100ml、煎茶は18.9 \pm 4.0 μ g/100ml (成分表記載値16 μ g)、玉露は61.9 \pm 31.3 μ g/100ml (同

150 μ g) となった。

今回測定した葉酸の主要供給源である食品の葉酸量と遊離葉酸比を図1に示した。また、香川式4群食品群別(表2)に平均値を算出した。遊離葉酸量の割合は、最大値がまぐろの76 \pm 20%、最小値がじゃが芋の0.6 \pm 0.2%だった。50%以上はまぐろ、納豆、30~50%が豚肉、ブロッコリー、飯、15~30%が、ほうれん草、卵、うどん、5~15%が、牛乳、煎茶、食パン、5%以下が玉露、さつま芋、キャベツ、ヨーグルト、レタス、じゃが芋となった。遊離葉酸量の割合が上位の3食品(まぐろ、納豆、豚肉)は全て4群食品群の第2群に属しており、主にたんぱく質源となる食品であった。

日本食献立、5食における総葉酸含量と遊離葉酸比(%)は、表3にしめすとおりで、総葉酸含量は献立によって異なるものの、遊離葉酸の割合は大差がない結果となった。

考察：

葉酸摂取の重要性への関心が高まってきているが、我が国では、穀類の葉酸添加は許可されておらず、天然の食品から十分に葉酸摂取することが必要である。食品中の葉酸の bioavailability は50%程度とされており¹⁰⁾、モノグルタミン酸型葉酸は PteGlu を100%とすると70~120%と言われている¹¹⁾。従って、食品からの葉酸摂取量の正確な把握や健康の維持、病気の予防に必要な葉酸摂取量の推定のためには、食品中の葉酸組成の詳しい情報が必要である。食品中葉酸の定量法は *L.casei* を用いた微生物学的定量法が最も一般的に使われてい

る。*L.casei* が広範囲の葉酸化合物を利用できるためであるが、1970年初頭まで *L.casei* が数個のグルタミン残基を持つポリグルタミン酸型葉酸を利用出来ることは知られておらず、Tamura ら⁷⁾ が、*L.casei* がグルタミン酸4個以上結合したポリグルタミン酸型にも生育活性を示すと報告した。本研究においてもあらかじめ葉酸標準品で *L.casei* のポリグルタミン酸型葉酸への生育活性を確認した。したがって微生物学的定量法を用いた本研究では食品中の正確なモノグルタミン酸型葉酸の含量を測定することは難しい。しかし、Ndaw ら⁸⁾ が HPLC 法にて食品中葉酸のグルタミン酸側鎖を分画した結果、イースト、ほうれん草、えんどう豆、小麦粉、粉ミルク、りんごには、ジおよびトリグルタミン酸型葉酸は検出されなかった。彼らはほうれん草のモノグルタミン酸型葉酸は24.2%と報告しており、本研究でのほうれん草の遊離葉酸比率21.4%と類似の値であったことにより、このほうれん草の遊離葉酸は大部分がモノグルタミン酸型葉酸だと推測された。

今回、食品から葉酸の抽出に用いた trienzyme 法は、1990年に Martin らによって発表された¹²⁾。この方法は、コンジュガーゼ、プロテアーゼ、 α -アミラーゼの3種類の酵素を使用して、食品中の炭水化物やタンパク質の高次構造に取り込まれたり、結合していると考えられる葉酸の遊離を促す。特に、組織中のポリグルタミン酸型葉酸は、FBP(葉酸結合たんぱく)と結合して存在しているため、より完全な葉酸の抽出、遊離を可能とし、食品によっては、葉酸量が従来の2~3倍にも増加すると報告されている¹³⁾。我が国の食品成分表

の記載値は、trienzyme 法を用いていない、即ちアミラーゼ処理をしていない¹⁴⁾。trienzyme 法とアミラーゼ処理をしない葉酸値を比較すると、やはり前者のほうが高値である¹⁵⁾。つまり食品によっては、成分表の値が真の葉酸含量よりも低い可能性がある。

従来、葉酸はコメに多く含まれているため、我が国の食生活においては、日本人に欠乏症は起こりにくいと言われていた。しかし、食生活の欧米化が進み、コメの消費量も年々減少してきた。葉酸摂取量は平成15年度国民健康・栄養調査では309 μg /日で、その由来は、約100 μg が野菜、40 μg が動物性食品、27 μg が穀類、残る130 μg はその他の食品である。葉酸供給源である茶飲料の葉酸量を市販のペットボトル茶で調べてみると、4.4 \pm 1.2 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ となり7種類で大差みられず、成分表の煎茶16 μg よりかなり低値であった。そもそも葉酸化合物のほとんどが光に対して不安定であり、流通過程での光分解が一因と考えられる。女子学生の食事記録 (n=50) より茶飲料の葉酸量を煎茶からペットボトル茶の値に変えて再計算したところ、葉酸平均摂取量は334 μg から312 μg と減少 (6.6%減少) した。

オランダにおけるモノグルタミン酸とポリグルタミン酸型葉酸摂取量の調査では、摂取葉酸のうち1/3がモノグルタミン酸型葉酸でその供給源はパン、肉類で約4割を占めており、ポリグルタミン酸型葉酸は野菜類からの摂取が多かった。また男性では血漿葉酸値とモノグルタミン酸型葉酸摂取量に有意な相関があると報告している¹⁶⁾。本研究でもタンパク質源となる4群食品群

の第2群では遊離葉酸の比率が高かった。しかし食事5献立の遊離葉酸割合は平均14%でポリグルタミン酸型葉酸の比率が高かった。今回は5献立しか分析していないため結論づけることは難しいが、葉酸利用効率に障害が予想されている萎縮性胃炎などによる加水分解酵素の減少、遺伝子多型者などでは、ポリグルタミン酸型葉酸の多い食生活では葉酸不足の恐れもある。日本人の食生活を反映したモノグルタミン酸型葉酸とポリグルタミン酸型葉酸の摂取比率は、効率のよい葉酸摂取を考える上で重要であり、今後は HPLC 法を用いた分析が課題である。

参考文献：

1. Hiraoka M, Kato K, Saito Y, Yasuda K, Kagawa Y (2004) Gene-nutrient and gene-gene interactions of controlled folate intake by Japanese women. *Biochem Biophys Res Commun.* 316: 1210-1216.
2. Hiraoka M (2004) Folate intake, serum folate, serum total homocysteine levels and methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in young Japanese women. *J Nutr Sci Vitaminol.* 50: 238-245.
3. 木村修一, 小林修平監修：最新栄養学 [第8版] - 専門領域の最新情報 -, p.221-236, 建帛社 (2000)
4. 日本ビタミン学会編：ビタミンハンドブック②水溶性ビタミン, 化学同人, 京都 p127 (1989)
5. Institute of Medicine (1998) Folate. In: *Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin*

- B₆, Folate, Vitamin B₁₂, Pantothenic Acid, Biotin and Choline. National Academy Press, Washington, DC.
6. Hiraoka M, Kato K, Saito Y, Yasuda K, Kagawa Y (2004) Gene-nutrient and gene-gene interactions of controlled folate intake by Japanese women. *Biochem Biophys Res Commun.* 316: 1210-1216.
 7. Hiraoka M (2004) Folate intake, serum folate, serum total homocysteine levels and methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in young Japanese women. *J Nutr Sci Vitaminol.* 50: 238-245.
 8. 生活情報センター編：食生活データ統合統計年報 2006年版. p20-39, 食生活情報センター, 東京 (2006)
 9. Tamura T, Shin YS, Williams MA, Stokstad, ELR. (1972) *Lactobacillus casei* response to pteroylpolyglutamate. *Anal Biochem.* 49: 517-521.
 10. Nadw S, Bergaentzlé M, Aoudé-Werner D, Lahély S, Hasselmann C. (2001) Determination of folates in foods by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection after precolumn conversion to 5-methyltetrahydrofolate. *J Chromatogr A.* 928: 77-90.
 11. Hyun TH, Tamura T. (2005) Trienzyme extraction in combination with microbiologic assay in food folate analysis: An update review. *Exp Biol Med.* 230: 444-454.
 12. Sauberlich HE, Kretsch MJ, Skala JH, Johnson HL, Taylor PC. (1987) Folate requirement and metabolism in nonpregnant women. *Am J Clin Nutr.* 46: 1016-1028.
 13. Tamura T, Stockstad ELR. (1973) The availability of food folate in man., *Br J Haematol.* 25: 513-532.
 14. Martin JI, Landen Jr WO, Soliman AGM, Eitenmiller RR. (1990) Application of a tri-enzyme extraction for total folate determination in foods. *J Assoc Off Anal Chem.* 5: 805-809.
 15. 相曾健二, 水野安晴, Johnston KE, 田村庸信 (1998) 食品中の葉酸定量法：Trienzyme 処理を中心として. *ビタミン*, 72: 429-436.
 16. 文部科学省 科学技術・学術審議会資源調査分科会食品成分委員会編：五訂増補 日本食品標準成分表分析マニュアル. p89-92, 国立印刷局, 東京 (2005)

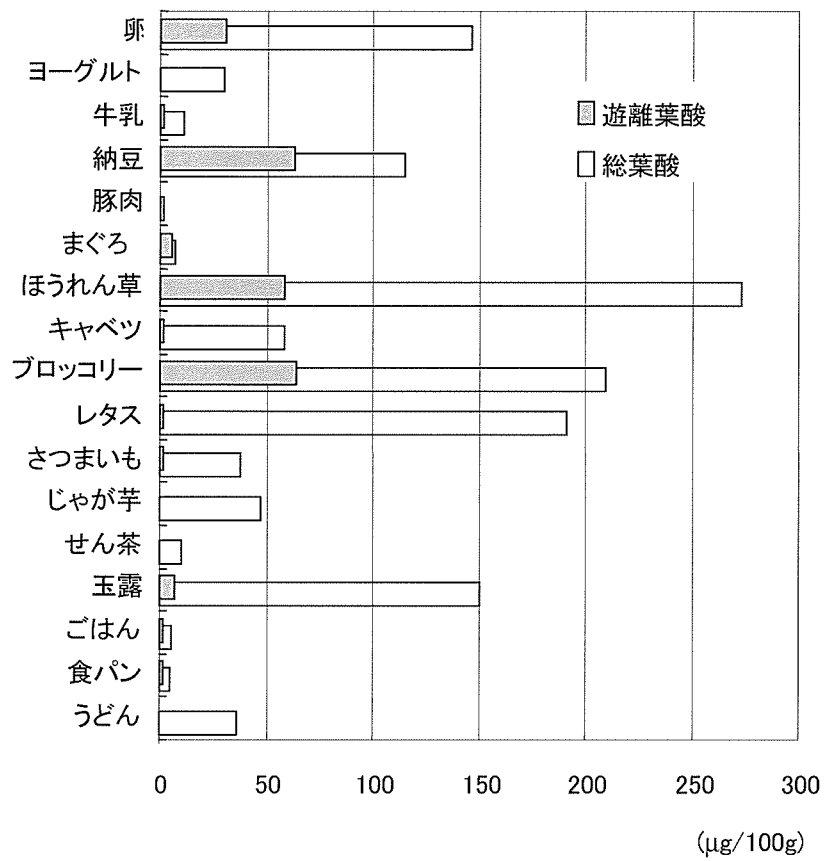


図1 葉酸主要供給源食品中の総葉酸量と遊離葉酸量

表1 茶飲料中の葉酸量

	総葉酸 (μg/100ml)	遊離葉酸の割合 (%)
ペットボトル茶		
A おーいお茶	4.0±0.4	11.1
B 生茶	3.2±0.3	13.7
C まろ茶	5.3±0.4	11.4
D カテキン式	2.7±0.3	20.2
E ヘルシア	4.9±0.3	18.6
F おーいお茶濃い味	6.2±1.1	11.1
G 伊右衛門	4.4±0.9	13.5
ペットボトル茶 (A~G)平均	4.4±1.2	14±3.8
煎茶	18.9±4.0 (16)*	19.6
玉露	61.9±31.3 (150)*	27.4

表2 香川式4群食品群別の葉酸供給源上位食品中総葉酸量と遊離葉酸割合

食品群	食品名	総葉酸 (μg/100g)	遊離葉酸の割合 (%)
第1群	卵、ヨーグルト、牛乳	62.5±63.3	12.7±8.2
第2群	納豆、豚肉、マグロ	41.4±55.9	54.2±27.7
第3群	ほうれん草、キャベツ、ブロッコリー、レタス、さつまいも、じゃがいも	136.2±96.4	10.1±13.4
第4群	煎茶、玉露、うどん、白飯、食パン	41.6±57.8	13.3±10.8

平均値±SD

表3 日本食献立中の葉酸量と遊離葉酸の割合

献立	総葉酸 ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	遊離葉酸の割合 (%)	成分表による計算値 ($\mu\text{g}/100\text{g}$)
1 マグロ丼、かぼちゃとにんじんのきんぴら、長芋の素焼き	191	11.5	80
2 つけそば、にんじんのたらこ炒め、ゆりねときゅうりの梅肉添え、みかん	98	14.3	101
3 鮭の焼き南蛮漬け、ひじきのカラフル炒め、レタスとえのきの味噌汁、プルーンの紅茶漬け、胚芽米飯	163	16.6	84
4 ゴーヤチャンプルー、さやいんげんとエリンギの和え物、新玉ねぎとわかめの味噌汁、ヨーグルトとパインのシャーベット、胚芽米飯	247	15.0	122
5 さわらのさっぱり西京焼き、れんこんとしめじの梅和え、にんじんとしらたきの真砂炒め、さつまいものミルク煮、胚芽米飯	96	15.6	111

平成18年度厚生労働省科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

先天異常モニタリングサーベイランスに関する研究

主任研究者 平原史樹 横浜市立大学大学院医学研究科生殖生育病態医学
(産婦人科学) 教授

研究課題：神奈川県における人口ベース先天異常モニタリングに関する研究

研究協力者：黒澤健司（神奈川県立こども医療センター遺伝科科长）
共同研究者：黒木良和（川崎医療福祉大学教授）

研究要旨：神奈川県先天異常モニタリングプログラム（KAMP）では、神奈川県内出生のほぼ半数の出生児を対象に、人口ベースの先天異常モニタリングを継続実施している。2006年1年間の観察児総数は23,752人で、奇形児発生頻度は1.07%であった。2001年より小児病院併設周産期施設が参加したことにより奇形発生頻度の上昇が認められ、最近数年間の傾向としての1.20-1.30から、やや落ち着きを見せた。ダウン症候群発生頻度は、対10,000出生4.2で、一定している。今回、体外受精の有無を確認できる多胎妊娠例を対象に生殖補助医療（特に体外受精）の先天異常発生への影響を評価した。調査対象は2001年以降で、自然妊娠多胎1,447例を対照群とし、誘発妊娠・非体外受精群258例、誘発妊娠体外受精例483例における先天異常の発生状況をみた。奇形児発生率の上昇があるものの、親年齢上昇の影響も考慮する必要があり、解析には慎重を要す。18トリソミーおよび小腸閉鎖・狭窄が体外受精例で目立った。今後、発生について十分な監視体制が必要であると考えられた。

キーワード：先天異常モニタリング、生殖補助医療、多胎妊娠、体外受精

〔研究目的〕

先天異常の発生を継続的に監視することによって、主として環境要因によって誘発される先天異常の発生を予防または減少させることが先天異常モニタリングの目的である。本研究では神奈川県レベルの先天異常モニタリングを定着させる

ことを目指している。本年度は生殖補助医療の先天異常発生における影響評価として、情報が得られている多胎妊娠例を対象として検討を行った。昨年の小腸閉鎖・狭窄の検討を拡大させたかたちとした。わが国の少子化現象を背景に慎重に分析を進める必要がある。海外での報告

を確認する形となるが、重要と考えられた。

[対象と方法]

神奈川県における先天異常モニタリングプログラム（KAMP）の方法論については既に述べているので省略する^{1, 2)}。奇形の発生状況を継続的に監視し、ベースラインとの比較において異常発生の有無を判定している。2001年度から第4世代の報告形式をとっている。

[結果と考察]

(1) 2006年の先天奇形の発生状況

1) 観察児数と奇形児頻度の推移

2006年の観察児数と奇形児頻度は、年間合計観察児総数23,752、奇形児総数253人で奇形児頻度は1.07%であった（表1）。奇形児の報告が昨年（1.30%）に比較してやや低下し、数年前の状況と等しくなった。

多胎児頻度は7.92/1,000分娩とほぼ例年どおりであった。観察児数は協力施設数の減少と調査票回収率の漸減傾向が依然として続き、緩やかな減少が続いている。

2) 個々の奇形の発生状況（表2, 3、図1-4）

本年度も個々の奇形の発生に統計的に有意な増減は観察されなかった（表2）。無脳症、脳瘤、水頭症などの重症な中枢神経奇形は低頻度で推移している。その他、過去に一過性の上昇の認められた尿道下裂やダウン症候群の発生頻度上昇はなかった。

(2) 生殖補助医療の普及による先天異常発生傾向の評価

先進国における生殖補助医療（assisted reproduction technology; ART）の普及は、多胎出生の増加をもたらし、結果として多胎に伴う先天異常の増加、低出生体重児の増加をもたらしている。以前から生殖補助医療、特に受精卵を扱う IVF（in vitro fertilization）による先天異常発生への影響については、議論がなされてきた。ある種の先天異常あるいは先天性心疾患などは上昇するとの報告も散見する^{3~5)}が、実際には、母年齢などを考慮して修正して検討すると有意差は失われることがある。現在、米国ではほぼ1%の出生が IVF によるものである事実からも、先天異常発生への影響は極めて重要となっている。特に、発生頻度はきわめて低く、診断評価が難しいものの、Beckwith-Wiedemann 症候群など Imprinting defects による疾患については相対リスクの上昇が有意差をもって確認されている⁶⁾。今回、詳細な情報が得られている多胎例を用いて、IVF の影響を評価した。例数は少ないものの、対照群において評価することは解析精度をより高めることになる。

1) 対象

評価方法が修正された2001年から2006年までの出生総数167,163例（男児86,097、女児81,458、性不明31；単胎164,601、多胎3,012）より、多胎例3,012例を抽出し検討を行った。この期間の奇形児総数1,900例で、発生頻度は1.13%であった。対象を自然妊娠多胎、非体外受精（誘発妊娠）多胎、体外受精（誘発妊